

## SAMPLE MEASURING PROBE DEVICE

Patent Number: JP8021845  
Publication date: 1996-01-23  
Inventor(s): KAJIMURA HIROSHI  
Applicant(s): OLYMPUS OPTICAL CO LTD  
Requested Patent: ☐ JP8021845  
Application Number: JP19940176208 19940706  
Priority Number(s):  
IPC Classification: G01N37/00; G01B21/30  
EC Classification:  
Equivalents:

### Abstract

**PURPOSE:** To provide a sample measuring probe device capable of measuring a sample held in a liquid in the noncontact mode.

**CONSTITUTION:** A sample 1 is immersed and held in a water solution 2 in a petri dish 5 held on a sample hold base 14, and an elastic body 4 supporting a probe 3 at the free end is supported on an inside supporter 9 excitable by a vibration drive body 12. The length of the probe 3 is set so that the elastic body 4 is kept in no contact with the surface of the water solution 2 when the tip of the probe 3 is moved near to the sample 1. Bellows 6-1, 6-2 are inserted between an outside supporter 10, the lower end section of the inside supporter 9, and the sample hold base 14, an airtight space 18 is formed between the petri dish 5 and the elastic body 4, and the airtight space 18 is connected to a steam source via a valve 7 to constitute a sample measuring probe device.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

RECEIVED  
SEP - 3 2003

TECHNOLOGY CENTER 2800

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-21845

(43) 公開日 平成8年(1996) 1月23日

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

G 0 1 N 37/00

G

G 0 1 B 21/30

Z

審査請求 未請求 請求項の数 3 F D (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平6-176208

(22) 出願日 平成6年(1994) 7月6日

(71) 出願人 000000376

オリンパス光学工業株式会社

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号

(72) 発明者 梶村 宏

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリ

ンパス光学工業株式会社内

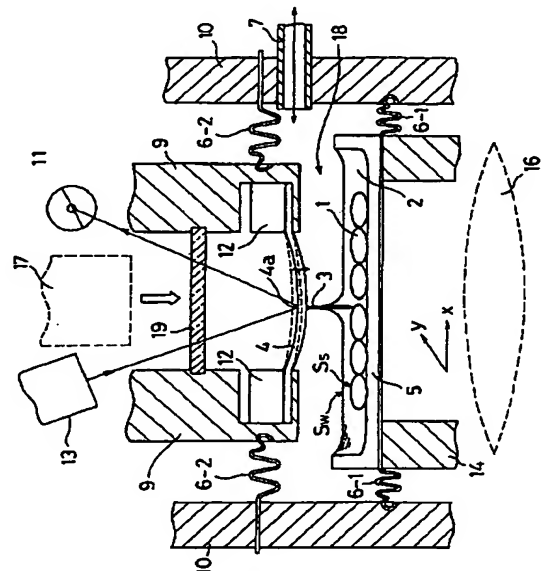
(74) 代理人 弁理士 最上 健治

(54) 【発明の名称】 試料測定用プローブ装置

(57) 【要約】

【目的】 液体中に保持されている試料のノンコンタクトモード測定を可能にする試料測定用プローブ装置を提供する。

【構成】 試料保持台14に保持されたシャーレ5において試料1を水溶液2に浸して保持し、探針3を自由端に支持した弾性体4を、振動駆動体12で励振できるようにして内側支持体9に支持する。この際、探針3の長さは、探針3の先端が試料1の近傍に接近したときに弾性体4が水溶液2の液面に触れないような長さに設定する。そして外側支持体10と内側支持体9の下端部及び試料保持台14との間にベローズ6-1、6-2を介在させ、シャーレ5と弾性体4間に気密空間18を形成し、該気密空間18をバルブ7を介して水蒸気源に接続して試料測定用プローブ装置を構成する。



1: 試料  
2: 水溶液  
3: 探針  
4: 弾性体  
5: シャーレ  
6-1: バルブ  
6-2: 弾性体  
7: 弁  
8: 振動駆動体  
9: 内側支持体  
10: 外側支持体  
11: 水蒸気源  
12: 振動駆動体  
13: レーザ光源  
14: 試料保持台  
15: 気密空間  
16: ガラス板

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 液体中に試料を保持する手段と、探針を自由端にほぼ直交して保持した弾性体と、該弾性体に所定の周波数の微振動を与える駆動源と、前記探針の先端が試料の近傍に接近したときの前記探針の微振動の周波数の変化を検出する検出装置とを有する試料測定用プローブ装置において、前記弾性体に保持した探針の長さを、該探針の先端が試料の近傍に接近したときに前記弾性体が前記液体表面に触れないように設定したことを特徴とする試料測定用プローブ装置。

【請求項 2】 請求項 1 記載の試料測定用プローブ装置において、前記試料表面と液体表面との距離を所定値に維持する手段を備えていることを特徴とする試料測定用プローブ装置。

【請求項 3】 前記液体中に試料を保持する手段は、その液体面が気密空間と接するように配置されていることを特徴とする請求項 1 又は 2 記載の試料測定用プローブ装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 この発明は、原子間力顕微鏡 (AFM) 及びそれに類する装置に用いられる試料測定用プローブ装置に関し、特に粘性を有する液体中に保持された試料に対しても歪みを与えることなく忠実に高分解能の測定ができるようにした試料測定用プローブ装置に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 従来、試料と試料に接近する探針先端に作用する原子間力によって、探針を保持する弾性体に生じる変位を検出して、試料の表面凹凸情報等を得るようにした原子間力顕微鏡が知られている。かかる原子間力顕微鏡における弾性体に生じる変位の検出法には、光干渉法、光合焦検出法、光テコ法などがあるが、光テコ法は構成が簡単で検出感度も良好であるので、一般によく使われている。この光テコ法では、弾性体の最も変位が大きい部分に光を投光し、その反射光をモニタすることによって、微小変位の変化を検出できるようになっている。

【0003】 また、最近では、細胞、細胞膜、DNA などのような液体中の生体試料に対する測定の要請があり、例えば米国特許第 4,935,634 号 (特開平 2-284015 号) には、走査プローブを包む液体セルを設けた原子間力顕微鏡が開示されている。この特許で開示されている原子間力顕微鏡における液体セル中に設けた弾性体は、レーザ光源と光検出素子からなる光テコ検出系を有し、試料は圧電体素子を用いた微動素子上において液体中に配設されており、弾性体を微動素子により試料に沿って相対的に走査し、その間に光検出素子から得られる弾性体の変位信号を画像化し、試料表面のトポグラフィ像を高分解度で得ることができるようになってい

る。

【0004】 しかしながら、測定試料が、細胞、細胞膜、DNA のような液体中の生体試料の場合、探針を保持する弾性体を構成するカンチレバーのバネ定数  $k$

(c) が、弾性体でもある細胞膜のバネ定数  $k$  (b) より大きいと、すなわち  $k$  (c)  $>$   $k$  (b) の場合には、探針を試料に近づけると、相互の接触を開始して両方のバネ力が原子間力  $F$  でバランスする。すなわち、 $F = k$  (c)  $\times d$  (c)  $= k$  (b)  $\times d$  (b) が成立する。ここで、 $d$  (c) はカンチレバーの変位、 $d$  (b) は細胞膜の変位である。このとき、細胞膜の変位  $d$  (b) がカンチレバーの変位  $d$  (c) より例えば 10 倍以上大きいと [ $d$  (b)  $/ d$  (c)  $> 10$ ]、カンチレバーが所定の検出変位に達する前に、細胞に歪みを与えてしまう。

【0005】 この問題を回避するために、最近では、従来のカンチレバーが試料と接触するコンタクトモード (斥力) 測定ではなく、例えば特開昭 63-309802 号に開示されているノンコンタクトモード (引力: ファンデルワールス力) 測定法を用いるようになって来ている。

このノンコンタクトモード測定法は、カンチレバーを共振周波数で振動させ、探針先端が試料表面に対して 1~10nm 程度近づくと、試料表面からのファンデルワールス力によって探針先端が拘束されて、カンチレバーの共振周波数が低下する振動学の原理を利用して、生体などの試料に歪みを与える以前に表面形状を測定する方法である。この方法では、カンチレバーの共振周波数のファンデルワールス力による変化が大になるように、振動系の減衰の程度を示す量としての  $Q$  の値 [quality factor:  $Q = 1 / (2\gamma)$ ,  $\gamma$ : 減衰比] の高いカンチレバー (一般に共振周波数が 50 kHz 以上で、バネ定数が 1 N/m 以上のもの) を用いる。この場合、この共振周波数の変化の検出には、カンチレバーの振動振幅の最も大きい部分を利用した光検出法が有効であるが、容量変化検出法や弾性体に内蔵されたピエゾ抵抗の抵抗値変化を用いることもできる。

## 【0006】

【発明が解決しようとする課題】 上記のように、試料表面が弾性を示す試料には、上記ノンコンタクトモード測定が有効である。しかしながら、試料は上記のように液体中に保持されている場合がある。特に生体試料は、細胞が水分と共に生きたまま存在しており、周囲の水分が蒸発すると、細胞内の水分も細胞膜を透過して脱水されてしまうので、生体試料を生きたままその表面等の構造を原子間力顕微鏡で観察するためには、細胞等の生体試料は水溶液又は他の有機溶媒に浸されている必要がある。

【0007】 このような生体試料などを液体中でノンコンタクトモード測定をする場合、次のような問題点が生ずる。すなわち、上記のように共振周波数の大きい (50 kHz) ノンコンタクトモード用のカンチレバーとして市

販されているものには、NANOPROBE 社のカンチレバーがあるが、このカンチレバーは、シリコン母材からエッチング処理によりカンチレバー部、カンチレバー支持部及び探針部を切り出して形成しており、カンチレバーの長さは100 ~ 300  $\mu\text{m}$ 、厚さは5  $\mu\text{m}$ 、探針長は10~15  $\mu\text{m}$ の微小構造体である。したがって、液体中の試料に探針先端が近づけば、カンチレバー全体及び支持部も液体に浸されてしまうという問題点がある。

【0008】一方、カンチレバーすなわち弾性体は、上記のノンコンタクトモードでは、自由端が、振動における位置エネルギーを蓄える復元性を有する慣性運動を行える。このカンチレバーに対して、真空中又は粘性抵抗の小さい大気中で共振周波数での共振運動を励起させると、粘性抵抗によるエネルギーの逸散がないので、振幅の減衰がなく、正弦波での周期的な励振ができる。

【0009】しかしながら、カンチレバーが液体や粘性のある気体中で励振されると、振動方向に垂直な実効的な面積と振動速度に比例する粘性抵抗すなわち減衰力が作用し、振幅は減衰する。したがって、粘性抵抗のある液体中でカンチレバーを励振させると、カンチレバーの全面に粘性抵抗が作用するが、固定端から自由端に行くにしたがって振幅が大となり角速度が大であってエネルギーの逸散が激しいので、振幅の減少が大きくなり励振が抑えられる。したがって、本来ノンコンタクトモード測定で期待されている、試料表面からのファンデルワールス力は、粘性抵抗による力に埋もれて検出できなくなってしまう。

【0010】本発明は、従来のノンコンタクトモード測定のプロブ装置における上記問題点を解消するためになされたもので、弾性体に保持された探針先端と試料の間に作用する原子間力を弾性体の振動の変化量に変換し、その変化量を例えば一定に制御することによって試料と探針の間の距離を制御して試料のトポグラフィー像を得るようにした原子間力顕微鏡などに用いられるプロブ装置において、液体中に設けられた試料に対しても試料に歪みを与えることなくノンコンタクトモード測定ができるようにした試料測定用プロブ装置を提供することを目的とする。

#### 【0011】

【課題を解決するための手段及び作用】上記問題点を解決するため、本発明は、液体中に試料を保持する手段と、探針を自由端にほぼ直交して保持した弾性体と、該弾性体に所定の周波数の微振動を与える駆動源と、前記探針の先端が試料の近傍に接近したときの前記探針の微振動の周波数の変化を検出する検出装置とを有する試料測定用プロブ装置において、前記弾性体に保持した探針の長さを、該探針の先端が試料の近傍に接近したときに前記弾性体が前記液体表面に触れないように設定するものである。

【0012】このように構成することにより、探針を試

料測定のため、その表面近傍に接近させても、探針を保持している弾性体は液体表面に触れることはなく、したがって弾性体は液体の粘性抵抗を受けずに、駆動源によりその共振周波数で励振され、弾性体の自由端にほぼ直交して設けられている探針は、液体中の試料に接近し、試料表面からの原子間力を受けて、共振周波数が変化する。これにより、液体中に維持された試料のノンコンタクトモード測定が可能となる。

#### 【0013】

【実施例】次に、実施例について説明する。図1は本発明に係る試料測定用プロブ装置の第1の実施例を示す概略構成図である。図において、1は試料で、該試料1はシャーレ5において水溶液2に浸されて保持されており、試料1の表面をノンコンタクトモード測定する探針3は、振動駆動体12によりその共振周波数で励振される弾性体4の自由端（弾性体がダイヤフラム又は両持ちバネであれば、中心又は中央）に、探針3の先端が試料表面  $S_s$  に対向するように支持されている。そして弾性体4及び振動駆動体12は、内側支持体9に保持されている。一方、シャーレ5は、試料台14にベローズ6-1を介して保持されており、試料台14は図示されなすキャナに接続され、試料1を水平方向（x、y方向）に走査できるようになっている。なお、ベローズ6-1の他端は外側支持体10に取り付けられている。

【0014】また、探針3の変位（共振周波数の変化）を検出するため、弾性体4の上方にレーザ光源13及び光検出器11を配置し、弾性体4の反射面4aにレーザ光を投光して反射させ、その反射ビームを光検出器11で受けて弾性体4の変位（実線位置から点線位置への変位）を検出できるようになっている。レーザ光源13及び光検出器11からなる変位検出系は、弾性体4及び振動駆動体12を保持する内側支持体9及び外側支持体10と一体的に構成されており、外側支持体10と内側支持体9の端部はベローズ6-2を介して着脱自在に固定され、内側支持体9を外すことにより、試料1又は探針3の交換が可能となるように構成されている。

【0015】また、探針3と水溶液2に浸された試料1は、ベローズ6-1、6-2及び支持体9、10により、ほぼ気密化された空間18内に配置されており、この空間18は外側支持体10に設けたバルブ7を介して、水蒸気源や他の気体、例えば  $\text{CO}_2$ 、 $\text{O}_2$  源に接続され、空間18内の気体圧力が制御され、水溶液表面  $S_w$  と試料表面  $S_s$  の距離が出来るだけ小さい所定値（0.2mm 以下）になるように制御している。また探針3の長さは、少なくとも探針3の先端が試料表面  $S_s$  に接近したとき弾性体4が水溶液表面  $S_w$  に触れないような長さに設定されている。なお、空間18は、弾性体4として両持ちバネを用いている場合には、内側支持体9にガラス板19を補うことによって、気密性を維持することができる。また、気密空間18内の蒸気圧を制御するために、図示されていない

5

温度制御付ヒータで気密空間18内の温度を制御してもよい。

【0016】また、試料1が細胞のような場合、光学観察が有効であり、そのためにシャーレ5の下方に対物レンズ16を、弾性体4の上方にファイバー等を用いた照明手段17を設けることができる。この光学系は、また必要に応じ試料表面 $S_s$ と水溶液表面 $S_w$ の位置をモニターすることができる。また、試料1と探針3の相対的走査のために、上記試料側のスキナの代わりに、内側支持体9を圧電体を備えた円筒アクチュエータ等に直接構成して、探針3を走査するようにしてもよい。

【0017】図2は、第2実施例を示す概略構成図で、第1実施例と同一又は対応する部材には同一符号を付して示している。この実施例においては、自由端に探針3を保持した振動駆動体12で励振される弾性体4は、内側支持体9に支持されており、該内側支持体9は外側支持体20の内部において上下摺動可能に支持されている。なお気密を保ために、摺動部にシリコンオイルを充填しておくとい。22はガラス板で、該ガラス板22の表面と外側支持体20下端部との間には、プラスチック又はゴム製のカバー21が配置されていて、探針3の周りに密閉空間18を形成すると共に、ガラス板22とカバー21の基部21aに囲まれた部分には、水溶液2が注入され、該水溶液中には試料1が保持されている。また水溶液2には、カバー21の中間部に設けたバルブ7を介して、第1実施例と同様に、図示しない液面制御装置が接続されている。

【0018】弾性体4の端部には、探針3の突出方向に探針3の長さとはほぼ等しい長さの電極23と該電極23より短い電極24が設けられている。そして探針3が降下したとき、探針3が試料表面に接近する前に、両電極23、24が水溶液2の液面に接触した場合、液面制御装置を駆動し、水溶液2の液面を制御するようになっている。また、この実施例における弾性体4の変位検出は、ファイバー干渉計のファイバー25を内側支持体9の内部に設け、該ファイバー25の端面25aと弾性体4に設けた中央反射面4aとの干渉を検出することによって、行うように構成されている。

【0019】このように構成された第2実施例において、探針3を保持した弾性体4を振動駆動体12で励振しながら内側支持体9を降下させて、探針3を水溶液中の試料表面に接近させる。その際、探針3が試料表面を検出する前に、短い電極24が水溶液2の液面に接触して液面を検出すると、バルブ7を介して接続されている液面制御装置が作動し、液面を下げる。したがって、弾性体4が水溶液2の液面に触れることなく、探針3が試料を走査し、測定することができる。

【0020】次に、第3実施例を図3に基づいて説明する。この実施例は、上記第1及び第2実施例が気密化した空間18を設け、液体の蒸発、凝縮を制御しているのに対し、水溶液2の表面に薄い油膜26を形成し、水溶液2

6

が表面から蒸発してしまうのを防ぐように構成している。油膜26を形成するオイルとしては、光学顕微鏡分野で市販されているミネラルオイルを用いる。ミネラルオイルの例としては、Saybolt Universal seconds 社製の Heavy white oil、Molecular Biology R agents社製の Light white oilなどがある。

【0021】また、試料1の表面 $S_s$ と水溶液2の表面 $S_w$ との距離を制御する手段としては、シャーレ5に設けたバルブ7とゴム導管28を介して連結した細管29を用いている。細管29は、支持部30に連携する図示されない上下駆動装置により矢印31で示すように、上下動可能に構成されている。また、シャーレ5内には、油膜26の厚さを制御する油膜隔離装置27が、油膜面積を拡張又は縮小するように、矢印32で示す如く移動できるように設けられている。この実施例では、気密空間18が設けられていないので、弾性体としてシリコン又はステンレス製のカンチレバー4'を用い、これに長い探針3を設けたものが、支障なく使用できる。

【0022】次に、この実施例における水溶液2の液面の制御について説明する。試料1を浸している水溶液の液面 $S_w$ 上にミネラルオイルを滴下する前に、油膜隔離装置27を移動させて、測定する部分の液面の表面積を小面積にする。小面積とした液面領域にミネラルオイルを滴下したとき、油膜26aの厚さが厚すぎている場合、油膜隔離装置27を移動させ液面領域を拡大し、できるだけ油膜を薄くする。次に、細管29を降下させ、水溶液2の液面 $S_w$ を試料1の表面 $S_s$ に十分近づけ、探針3の先端が試料1の表面に接近したときに、カンチレバー（弾性体）4'が水溶液2の表面を覆っている油膜26に触れないように制御する。これにより、カンチレバー4'が液面 $S_w$ 上の油膜26に触れることなく、探針3が試料を走査し、測定することができる。

【0023】次に、本発明において用いられる探針、及び探針と弾性体とを含むプローブユニットの構成例を、図4に基づいて説明する。図4の(A)、(B)は、探針保持ブロック42に弾性体4の両端を固定し、弾性体4の自由端に探針3を配置して構成したプローブユニット41を示している。探針保持ブロック42は、シリコン基板を異方性エッチング又はRIE（リアクティブイオンエッチング）によって加工して形成することができ、またセラミック型部品、金属部品で構成することもできる。弾性体4は、シリコンレバー又はステンレス等の金属板で構成される。探針3は、0.5～5mm程度の長さが好ましく、従来のカンチレバー付探針では、長さが15 $\mu$ m以下であるので、本発明にはそのまま使用することはできない。したがって、図4の(A)、(B)に示した探針3は、ガラスファイバーや金属細線45に、従来のカンチレバーに用いられている5～15 $\mu$ mの探針46を接着して構成したものであり、その他の構成の探針としては、図4の(C)に示すように、ガラスファイバーや金属細線

7

8

45の先端をエッチングして先鋭化したものや、図4の(D)に示すように、ガラスファイバーや金属細線45の一端に、ウィスカー針状結晶〔酸化亜鉛ウィスカー（長さ：2～200  $\mu\text{m}$ ）、炭化珪素ウィスカー（長さ：5～200  $\mu\text{m}$ ）、窒化珪素ウィスカー（長さ：5～200  $\mu\text{m}$ ）〕47を接着して構成したものなどが使用できる。

#### 【0024】

【発明の効果】以上実施例に基づいて説明したように、本発明によれば、探針を液体中に保持されている試料に接近させて測定を行う場合に弾性体は試料を保持している液体表面に触れることはなく、したがって液体中に保持した生きたままの細胞等の試料に対して、試料に与える歪みを少なくするノンコンタクトモード測定を、容易に行うことができる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明に係る試料測定用プローブ装置の第1実施例を示す概略構成図である。

【図2】本発明の第2実施例を示す概略構成図である。

【図3】本発明の第3実施例を示す概略構成図である。

【図4】本発明に係る試料測定用プローブ装置に用いるプローブユニット及び探針の構成例を示す図である。

#### 【符号の説明】

- 1 試料
- 2 水溶液
- 3 探針
- 4 弾性体
- 5 シャーレ

6-1, 6-2 ベローズ

7 バルブ

9 内側支持体

10 外側支持体

11 光検出器

12 振動駆動体

13 レーザ光源

14 試料保持台

16 対物レンズ

17 照明手段

18 気密空間

19 ガラス板

20 外側支持体

21 カバー

22 ガラス板

23, 24 電極

25 ファイバー

26 油膜

27 油膜隔離装置

28 ゴム導管

29 細管

30 支持部

41 プローブユニット

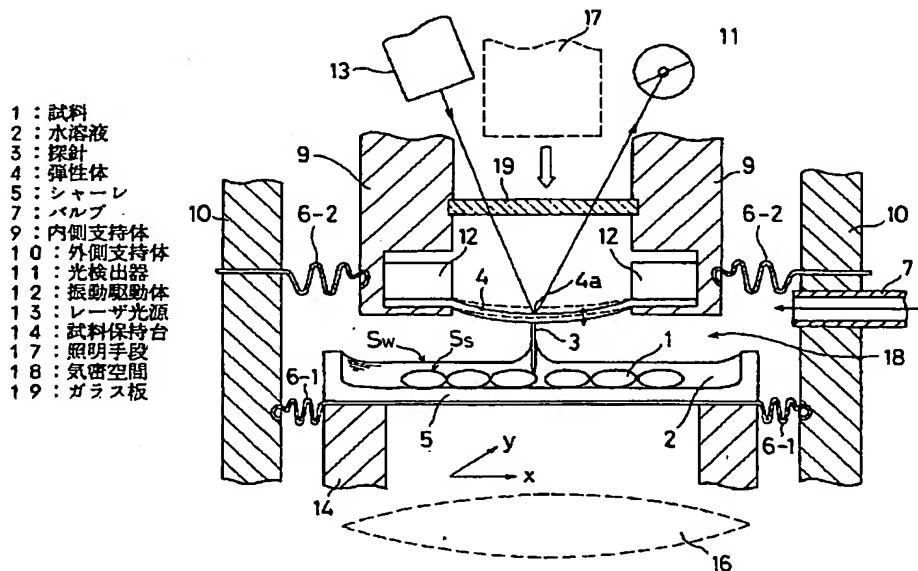
42 探針保持ブロック

45 ガラスファイバー又は金属細線

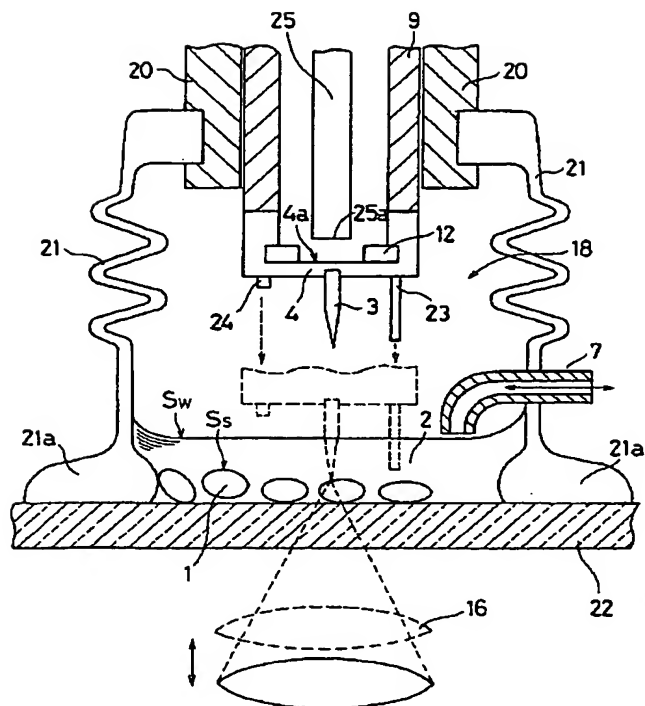
46 探針

47 ウィスカー針状結晶

【図1】

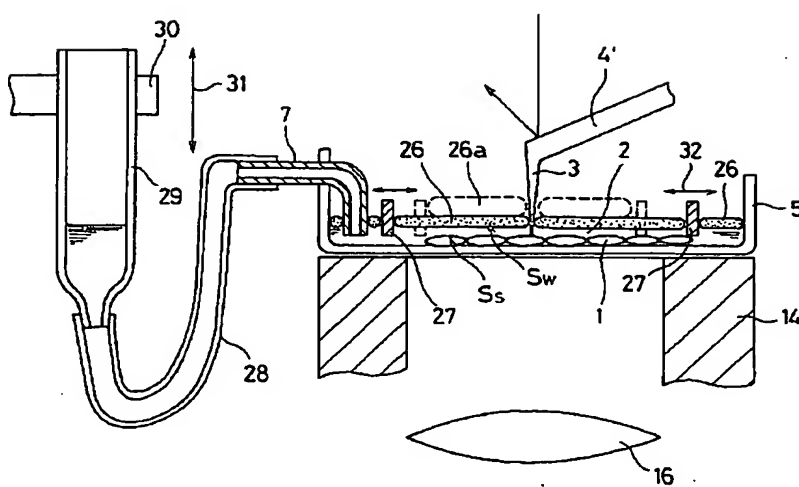


【図 2】



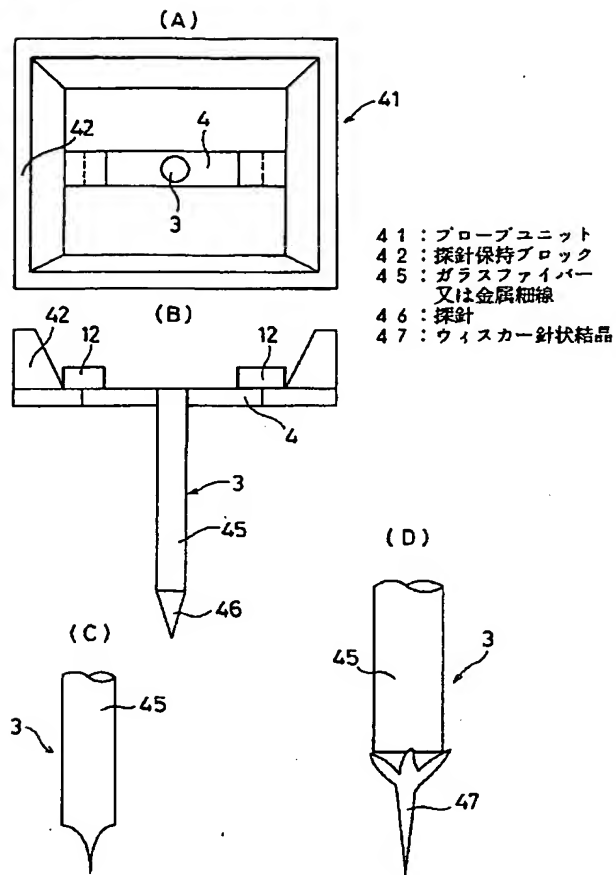
20 : 外側支持体  
 21 : カバー  
 22 : ガラス板  
 23, 24 : 電極  
 25 : ファイバー

【図 3】



26 : 油膜  
 27 : 油膜隔離装置  
 28 : ゴム導管  
 29 : 細管  
 30 : 支持部

【図 4】





# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 08-021845

(43)Date of publication of application : 23.01.1996

(51)Int.Cl.

G01N 37/00  
G01B 21/30

(21)Application number : 06-176208

(71)Applicant : OLYMPUS OPTICAL CO LTD

(22)Date of filing : 06.07.1994

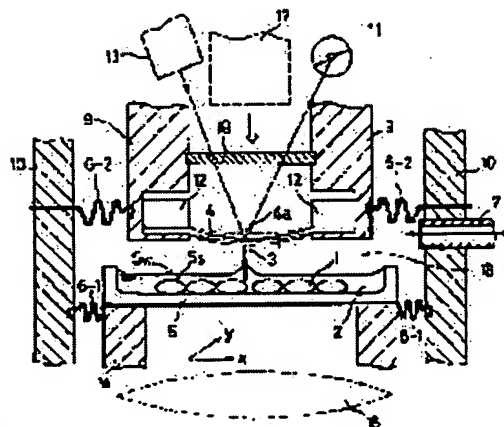
(72)Inventor : KAJIMURA HIROSHI

## (54) SAMPLE MEASURING PROBE DEVICE

### (57)Abstract:

**PURPOSE:** To provide a sample measuring probe device capable of measuring a sample held in a liquid in the noncontact mode.

**CONSTITUTION:** A sample 1 is immersed and held in a water solution 2 in a petri dish 5 held on a sample hold base 14, and an elastic body 4 supporting a probe 3 at the free end is supported on an inside supporter 9 excitably by a vibration drive body 12. The length of the probe 3 is set so that the elastic body 4 is kept in no contact with the surface of the water solution 2 when the tip of the probe 3 is moved near to the sample 1. Bellows 6-1, 6-2 are inserted between an outside supporter 10, the lower end section of the inside supporter 9, and the sample hold base 14, an airtight space 18 is formed between the petri dish 5 and the elastic body 4, and the airtight space 18 is connected to a steam source via a valve 7 to constitute a sample measuring probe device.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than

the examiner's decision of rejection or  
application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

\* NOTICES \*

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

---

CLAIMS

---

[Claim(s)]

[Claim 1] A means to hold a sample in a liquid. The elastic body which intersected perpendicularly with the free end mostly and held the probe. The driving source which gives fine vibration of predetermined frequency to this elastic body. Detection equipment which detects change of the frequency of fine vibration of the aforementioned probe when the nose of cam of the aforementioned probe approaches near the sample. It is the probe equipment for sample measurement equipped with the above, and is characterized by setting up the length of the probe held to the aforementioned elastic body so that the aforementioned elastic body cannot touch the aforementioned liquid front face, when the nose of cam of this probe approaches near the sample.

[Claim 2] Probe equipment for sample measurement characterized by having a means to maintain the distance on the aforementioned sample front face and the front face of a liquid to a predetermined value, in the probe equipment for sample measurement according to claim 1.

[Claim 3] A means to hold a sample in the aforementioned liquid is probe equipment for sample measurement according to claim 1 or 2 characterized by being arranged so that the liquid level may touch airtight space.

---

[Translation done.]

\* NOTICES \*

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

## DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Industrial Application] This invention relates to the probe equipment for sample measurement which could be made to perform measurement of a high resolution faithfully, without giving distortion also to the sample held in the liquid which has especially viscosity about the probe equipment for sample measurement used for the equipment similar to an atomic force microscope (AFM) and it.

[0002]

[Description of the Prior Art] Conventionally, the variation rate produced in the elastic body holding a probe according to the force between atoms of acting at the nose of cam of a probe close to a sample and a sample is detected, and the atomic force microscope which acquired the surface irregularity information on a sample etc. is known. Although there are an optical interferometer method, the optical focus detecting method, the optical TEKO method, etc. as method of detecting the variation rate produced in the elastic body in this atomic force microscope, since the optical TEKO method is easy to constitute and detection sensitivity is also good, generally it is often used. floodlighting light into the portion with the largest variation rate of an elastic body, and carrying out the monitor of the reflected light by this optical TEKO method, -- minute -- change of a variation rate can be detected now

[0003] Moreover, the atomic force microscope which prepared the liquid cell which there is a request of measurement to the biological material in liquids, such as a cell, a cell membrane, and DNA, recently, for example, wraps a scanning probe in U.S. Pat. No. 4,935,634 (JP,2-284015,A) is indicated. The elastic body prepared into the liquid cell in the atomic force microscope currently indicated by this patent Have the optical TEKO detection system which consists of a laser light source and a photo detector, and the sample is arranged into the liquid on the jogging element which used the piezo-electric-crystal element. An elastic body can be relatively scanned along with a sample by the jogging element, the displacement signal of the elastic body obtained from a photo detector in the meantime can be imaged, and the topography image on the front face of a sample can be obtained now with the degree of superresolution.

[0004] However, if load-rate [ of the cantilever from which a measurement sample constitutes the elastic body holding a probe in the case of the biological material in a cell, a cell membrane, and a liquid like DNA ]  $k(c)$  is larger than load-rate [ of the cell membrane which is also an elastic body ]  $k(b)$  (i.e., if a probe is brought close to a sample in  $k(c) > k(b)$ ), mutual contact will be started and both spring force will balance by the force  $F$  between atoms. That is,  $F = k(c) \cdot x_d(c) = k(b) \cdot x_d(b)$  is materialized. Here,  $d(c)$  is the variation rate of a cantilever and  $d(b)$  is the variation rate of a cell membrane. this time -- variation-rate [ of a cell membrane ]  $d(b)$  -- variation-rate [ of a cantilever ]  $d(c)$  -- for example, -- if large 10 or more times -- detection predetermined in  $[d(b)/d(c) > 10]$  and a cantilever -- distortion will be given to a cell before reaching a variation rate

[0005] In order to avoid this problem, it is coming to use the non contact mode (attraction : Van der Waals force) measuring method with which the conventional cantilever is indicated by not the contact mode (repulsive force) measurement in contact with a sample but JP,63-309802,A recently. This non

contact mode measuring method is the method of measuring the shape of surface type, before giving distortion to samples, such as a living body, using the principle of the oscillating study to which a probe nose of cam is restrained by the Van der Waals force from a sample front face, and the resonance frequency of a cantilever falls with it, if a cantilever is vibrated by resonance frequency and about 1-10nm of probe noses of cam approaches to a sample front face. Value [quality factor of Q as an amount which shows the grade of attenuation of vibration system by this method so that change by the Van der Waals force of the resonance frequency of a cantilever may become size :  $Q=1/(2\zeta)$ ,  $\zeta$ : Use the high cantilever (generally for resonance frequency, a load rate is the thing of 1 or more N/m above 50kHz) of damping ratio]. In this case, although the photodetection method using the largest portion of the vibration amplitude of a cantilever is effective in detection of change of this resonance frequency, the change in resistance of the piezoresistance built in the capacity change detecting method or the elastic body can also be used.

[0006]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] As mentioned above, the above-mentioned non contact mode measurement is effective in the sample a sample front face indicates elasticity to be. However, the sample may be held in the liquid as mentioned above. In order to observe the structure of the front face etc. with an atomic force microscope, living a biological material since the moisture in a cell will also penetrate a cell membrane and it will dehydrate if especially the biological material exists while the cell had been useful with moisture, and surrounding moisture evaporates, biological materials, such as a cell, need to be dipped in solution or other organic solvents.

[0007] When carrying out non contact mode measurement in a liquid, the following troubles produce such a biological material etc. That is, in what is marketed as mentioned above as a cantilever for non contact modes with large (50kHz) resonance frequency, it is NANOPROBE. Although there is a cantilever of a shrine, from the silicon base material, this cantilever starts the cantilever section, a cantilever supporter, and the probe section by etching processing, and forms, and the length of a cantilever is [ 5 micrometers and the probe length of 100 to 300 micrometer and thickness ] 10-15-micrometer microstructures. Therefore, if a probe nose of cam approaches the sample in a liquid, the whole cantilever and a supporter also have the trouble of being dipped in a liquid.

[0008] On the other hand, a cantilever, i.e., an elastic body, can perform inertia movement which has the stability in which the free end stores the potential energy in vibration in the above-mentioned non contact mode. Since there is no fly off of the energy by the viscous drag when resonance movement by resonance frequency is excited in a vacuum or the small atmosphere of a viscous drag to this cantilever, there is no attenuation of an amplitude and periodic excitation by the sine wave can be performed.

[0009] However, if a cantilever is excited in a gas with a liquid or viscosity, it will act, the viscous drag, i.e., the damping force, proportional to an effective area and the velocity of vibration perpendicular to the oscillating direction, and an amplitude will be decreased. Therefore, since large next door angular velocity is [ an amplitude ] size and the fly off of energy is intense as it goes to the free end from the fixed end although a viscous drag acts all over a cantilever when a cantilever is excited in a liquid with a viscous drag, reduction in an amplitude becomes large and excitation is suppressed. It will become impossible therefore, to bury and detect the Van der Waals force from the sample front face originally expected by non contact mode measurement in the force by the viscous drag.

[0010] this invention is what was made in order to cancel the above-mentioned trouble in the probe equipment of the conventional non contact mode measurement. The force between atoms of acting between the probe nose of cam held at the elastic body and a sample is changed into the variation of vibration of an elastic body. In the probe equipment used for the atomic force microscope which controls the distance between a sample and a probe and obtained the topography image of a sample by controlling the variation uniformly, for example It aims at offering the probe equipment for sample measurement which could be made to perform non contact mode measurement, without giving distortion to a sample also to the sample prepared into the liquid.

[0011]

[Means for Solving the Problem and its Function] A means by which this invention holds a sample in a

liquid in order to solve the above-mentioned trouble, The elastic body which intersected perpendicularly with the free end mostly and held the probe, and the driving source which gives fine vibration of predetermined frequency to this elastic body, In the probe equipment for sample measurement which has detection equipment which detects change of the frequency of fine vibration of the aforementioned probe when the nose of cam of the aforementioned probe approaches near the sample When the nose of cam of this probe approaches near the sample, the length of the probe held to the aforementioned elastic body is set up so that the aforementioned elastic body cannot touch the aforementioned liquid front face.

[0012] Thus, even if it makes it approach near [ the ] the front face by constituting for sample measurement of a probe The \*\* in which the elastic body holding the probe does not touch a liquid front face, therefore an elastic body does not receive the viscous drag of a liquid, The probe prepared by being excited by the driving source by the resonance frequency, and intersecting perpendicularly with the free end of an elastic body mostly approaches the sample in a liquid, and resonance frequency changes in response to the force between atoms from a sample front face. Thereby, non contact mode measurement of the sample maintained in the liquid is attained.

[0013]

[Example] Next, an example is explained. Drawing 1 is the outline block diagram showing the 1st example of the probe equipment for sample measurement concerning this invention. For the probe 3 which 1 is a sample in drawing, and this sample 1 is dipped in solution 2 in a petri dish 5, is held, and carries out non contact mode measurement of the front face of a sample 1, the nose of cam of a probe 3 is the sample front face SS to the free end (if an elastic body is a diaphragm or both the \*\*\*\* spring, they are a center or a center) of the elastic body 4 excited by the resonance frequency by the oscillating driver 12. It is supported so that it may counter. And the elastic body 4 and the oscillating driver 12 are held at the inside base material 9. On the other hand, the petri dish 5 is held through bellows 6-1 on the sample base 14, and the sample base 14 is connected to the scanner which is illustrated and is not, and it can scan a sample 1 now horizontally (x, the direction of y). In addition, the other end of bellows 6-1 is attached in the outside base material 10.

[0014] Moreover, in order to detect the variation rate (change of resonance frequency) of a probe 3, arrange a laser light source 13 and a light sensitive cell 11 above an elastic body 4, and floodlight a laser beam to reflector 4a of an elastic body 4, it is made to reflect in it, and the variation rate (variation rate from real line position to a dotted-line position) of an elastic body 4 is detected in response to the reflective beam by the light sensitive cell 11. The displacement detection system which consists of a laser light source 13 and a light sensitive cell 11 is constituted in one with the inside base material 9 and the outside base material 10 holding an elastic body 4 and the oscillating driver 12, and it is fixed free [ attachment and detachment ] through bellows 6-2, and by removing the inside base material 9, the edge of the outside base material 10 and the inside base material 9 is constituted so that it may become exchangeable [ a sample 1 or a probe 3 ].

[0015] Moreover, the sample 1 dipped in a probe 3 and solution 2 It is arranged in bellows 6-1, and the 6 space 18 mostly airtight-ized by -2 and base materials 9 and 10, and this space 18 minds the bulb 7 prepared in the outside base material 10. A moisture source, other gases 2, for example, CO, and O<sub>2</sub> It connects with a source, the gas pressure force in space 18 is controlled, and it is the solution front face SW. Sample front face SS It is controlling so that distance becomes the smallest possible predetermined value (0.2mm following). Moreover, for the length of a probe 3, the nose of cam of a probe 3 is the sample front face SS at least. When it approaches, an elastic body 4 is the solution front face SW. It is set as the length which cannot be touched. In addition, space 18 can maintain airtightness by compensating the inside base material 9 with a glass plate 19, when both the \*\*\*\* spring is used as an elastic body 4. Moreover, in order to control the vapor pressure in the airtight space 18, you may control the temperature in the airtight space 18 by the heater with a temperature control which is not illustrated.

[0016] Moreover, case [ whose sample 1 is / like a cell ], optical observation is effective, and the lighting means 17 to which for the reason used the objective lens 16 under the petri dish 5, and it used the fiber etc. above the elastic body 4 can be established. This optical system accepts the need again and

is the sample front face SS. Solution front face SW It can act as the monitor of the position. Moreover, the inside base material 9 is directly constituted in the cylinder actuator equipped with the piezo electric crystal etc. instead of the scanner by the side of the above-mentioned sample, and you may make it scan a probe 3 for the relative scan of a sample 1 and a probe 3.

[0017] Drawing 2 is the outline block diagram showing the 2nd example, and attaches and shows the same sign to the same as that of the 1st example, or the corresponding member. In this example, the elastic body 4 excited with the oscillating driver 12 which held the probe 3 to the free end is supported by the inside base material 9, and this inside base material 9 is supported possible [ vertical sliding ] in the interior of the outside base material 20. In addition, it is good to fill up an airtight with a silicone oil in the sliding section at a \*\* sake. 22 is a glass plate, while the covering 21 made of plastics or rubber is arranged between the front face of this glass plate 22, and the outside base material 20 soffit section and forming a closed space 18 in the surroundings of a probe 3, solution 2 is injected into the portion surrounded by base 21a of a glass plate 22 and covering 21, and the sample 1 is held in this solution. Moreover, the liquid-level-control equipment which is not illustrated is connected to solution 2 like the 1st example through the bulb 7 prepared in the pars intermedia of covering 21.

[0018] The electrode 24 shorter than the length of a probe 3, the electrode 23 of almost equal length, and this electrode 23 is formed in the edge of an elastic body 4 in the protrusion direction of a probe 3. And when a probe 3 descends and two electrodes 23 and 24 contact the oil level of solution 2 before the probe 3 approached the sample front face, liquid-level-control equipment is driven and the oil level of solution 2 is controlled. Moreover, it is constituted so that displacement detection of the elastic body 4 in this example may be performed by forming the fiber 25 of a fiber interferometer in the interior of the inside base material 9, and detecting interference with end-face 25a of this fiber 25, and central reflector 4a prepared in the elastic body 4.

[0019] Thus, the inside base material 9 is dropped exciting the elastic body 4 holding the probe 3 with the oscillating driver 12, and a probe 3 is made to approach the sample front face in solution in the 2nd constituted example. If the short electrode 24 contacts the oil level of solution 2 and detects an oil level before a probe 3 detects a sample front face in that case, the liquid-level-control equipment connected through the bulb 7 will operate, and an oil level will be lowered. Therefore, a probe 3 can scan and measure a sample, without an elastic body 4 touching the oil level of solution 2.

[0020] Next, the 3rd example is explained based on drawing 3 . This example forms the space 18 which the above 1st and the 2nd example airtight-ized, forms the thin oil film 26 in the front face of solution 2 to controlling evaporation of a liquid, and condensation, and it constitutes it so that it may prevent solution 2 evaporating from a front face. As oil which forms an oil film 26, the mineral oil marketed in the optical microscope field is used. As an example of a mineral oil, it is Saybolt Universal seconds. Shrine make Product made from Heavy white oil and Molecular Biology Reagents There is Light white oil etc.

[0021] moreover, front face SS of a sample 1 Front face SW of solution 2 the bulb 7 prepared in the petri dish 5 as a means to control distance, and rubber -- the capillary 29 connected through the conduit 28 is used The capillary 29 is constituted possible [ vertical movement ], as an arrow 31 shows with the vertical driving gear which cooperates to a supporter 30 and which is not illustrated. Moreover, in the petri dish 5, the oil film isolation equipment 27 which controls the thickness of an oil film 26 is formed so that oil film area may be extended or reduced, and it can move, as an arrow 32 shows. In this example, since the airtight space 18 is not formed, what formed the long probe 3 in this can use it convenient using cantilever 4' made from silicon or stainless steel as an elastic body.

[0022] Next, control of the oil level of the solution 2 in this example is explained. Oil level SW of solution which has dipped the sample 1 Before a mineral oil is dropped upwards, oil film isolation equipment 27 is moved and the surface area of the oil level of the portion to measure is made into small area. When a mineral oil is dropped at the oil-level field made into small area and the thickness of oil film 26a is too thick, oil film isolation equipment 27 is moved, an oil-level field is expanded, and an oil film is made thin as much as possible. Next, a capillary 29 is dropped and it is the oil level SW of solution 2. Front face SS of a sample 1 When it brings close enough and the nose of cam of a probe 3

approaches the front face of a sample 1, it controls to be unable to touch the oil film 26 to which cantilever (elastic body) 4' is wearing the front face of solution 2. Thereby, cantilever 4' is an oil level SW. A probe 3 can scan and measure a sample, without touching the upper oil film 26.

[0023] Next, the example of composition of the probe unit containing the probe used in this invention and a probe, and an elastic body is explained based on drawing 4. (A) of drawing 4 and (B) fix the ends of an elastic body 4 to the probe maintenance block 42, and show the probe unit 41 which arranges and constituted the probe 3 in the free end of an elastic body 4. The probe maintenance block 42 can process and form a silicon substrate by anisotropic etching or RIE (reactive ion etching), and can also constitute it from ceramic die parts and metal parts. An elastic body 4 consists of metal plates, such as a silicon lever or stainless steel. A probe 3 has a desirable length of about 0.5-5mm, and by the conventional probe with a cantilever, since length is 15 micrometers or less, it cannot be used for this invention as it is. Therefore, the probe 3 shown in (A) of drawing 4 and (B) The 5-15-micrometer probe 46 used for the conventional cantilever at the glass fiber metallurgy group thin line 45 is pasted up and constituted. as a probe of other composition As are shown in (C) of drawing 4 and the nose of cam of the glass fiber metallurgy group thin line 45 is shown in what \*\*\*\*\*ed and was radicalized, and (D) of drawing 4 At the end of the glass fiber metallurgy group thin line 45, a whisker needle crystal [zinc-oxide whisker (length : 2-200 mum), A silicon-carbide whisker (length : 5-200 mum), the thing which pasted up and constituted silicon-nitride whisker (length : 5-200 mum)]47 can be used.

[0024]

[Effect of the Invention] As explained based on the example above, when measuring by making a probe approach the sample currently held in the liquid according to this invention, an elastic body can perform easily non contact mode measurement which lessens distortion given to a sample to samples, such as a cell [ having lived / which did not touch the liquid front face holding the sample with, therefore was held in the liquid ].

---

[Translation done.]



## \* NOTICES \*

Japan Patent Office is not responsible for any damages caused by the use of this translation.

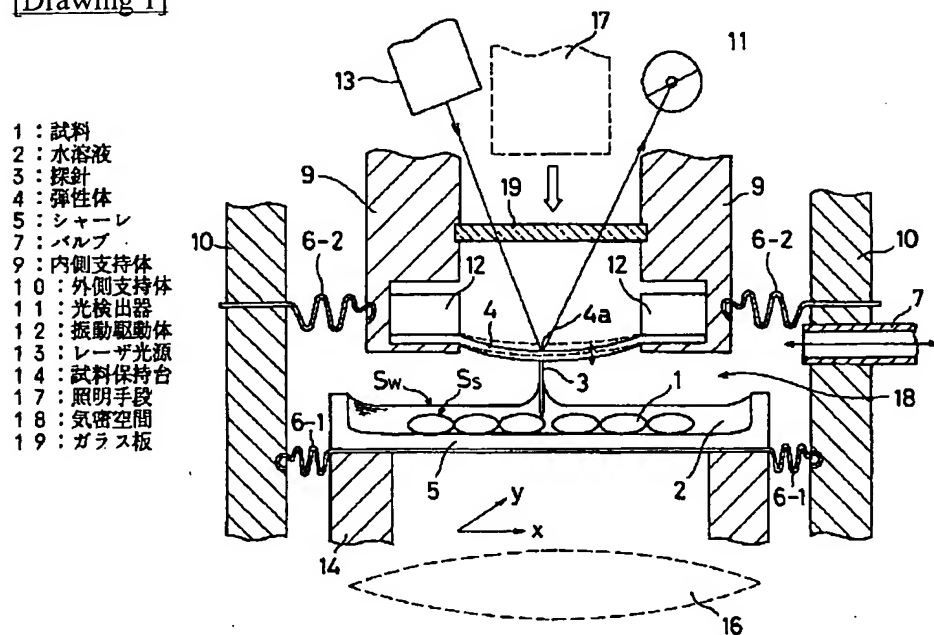
1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

2. \*\*\*\* shows the word which can not be translated.

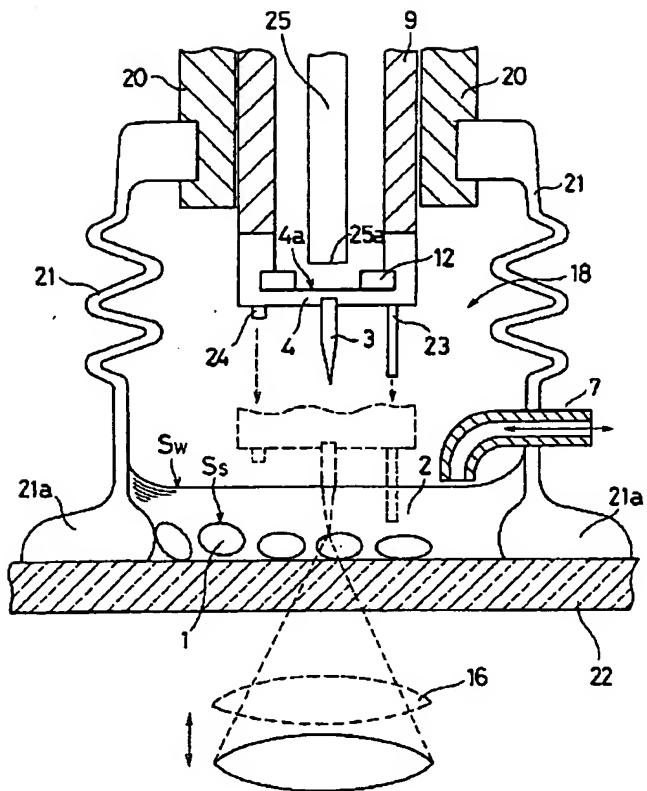
3. In the drawings, any words are not translated.

## DRAWINGS

[Drawing 1]

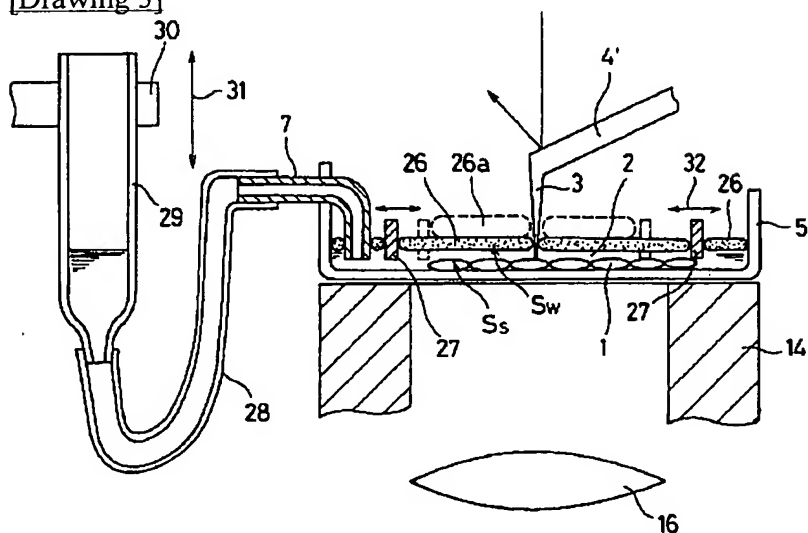


[Drawing 2]



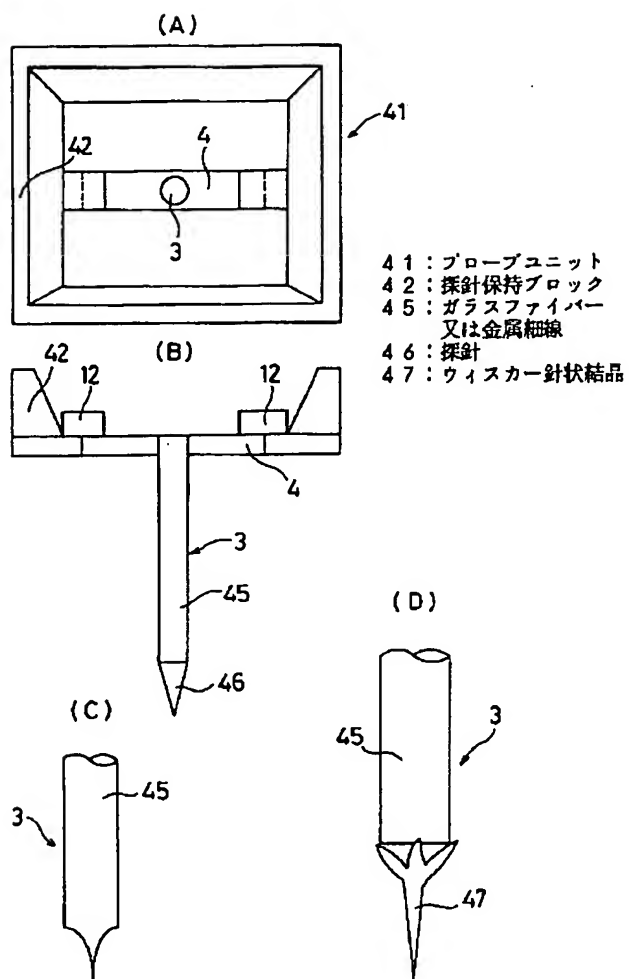
- 20 : 外側支持体  
 21 : カバー  
 22 : ガラス板  
 23, 24 : 電極  
 25 : ファイバー

[Drawing 3]



- 26 : 油膜  
 27 : 油膜隔離装置  
 28 : ゴム導管  
 29 : 細管  
 30 : 支持部

[Drawing 4]



[Translation done.]